Entwicklungskreis einer Amoeba lobosa (Gymnamoeba): Amoeba Gruberi

von

Dr. **Franz Schardinger.**

Aus der k. k. allgemeinen Untersuchungsanstalt für Lebensmittel in Wien.

(Mit 2 Tafeln.)

Die von mir im Jahre 1896/97 veröffentlichten Arbeiten über Protozoënculturen[1] sind, im Drange der Zeit und unter den ungünstigsten äusseren Verhältnissen entstanden, vielfach lückenhaft.

Der hohen Einsicht und dem fördernden Interesse, das Herr Obersanitätsrath Prof. Dr. Max Gruber dem Gegenstande entgegenbrachte, verdanke ich die Möglichkeit einer, wenn auch nur theilweise abschliessenden Ergänzung.

Auf einem bestimmten Nährboden hatte ich eine Amöbe in bakterienfreier Cultur erhalten, ihre Fortzüchtung bei Ausschluss von Bakterien aber als unmöglich erkannt.

Inzwischen ist von Frosch[2] die Beziehung zwischen Bakterien und Amöben klargelegt worden, und Tsujitani[3] hat in jüngster Zeit eine Culturmethode mit lebenden oder abgetödteten Bakterien veröffentlicht. Ausserdem sind mannigfache Culturversuche mitgetheilt worden, die jedoch das angestrebte Ziel nicht erreichten. Eine ausführliche Zusammenstellung der bezüglichen Literatur findet sich in Behla's[4] Monographie über Amöben.

[1] Centr. f. Bakt. u. Paras., Bd. XXI u. XXII.

[2] Centr. f. Bakt. u. Paras., Bd. XXI.

[3] Centr. f. Bakt. u. Paras., Bd. XXIV.

[4] Die Amöben vom parasitären und culturellen Standpunkte. Berlin, 1897.

Meine Vermuthung, dass die im Heu- oder Strohauszug, wenn auch in minimaler Menge vorkommenden Stoffe diesen niederen Thieren in allen Fällen genügende Nahrung bieten würden, hat sich nicht bestätigt. Der Schwerpunkt liegt jetzt in der Frage, welche Stoffe im Leibe bestimmter Bakterienarten den Amöben zusagende Nahrung bieten.

Für die Cultur, namentlich Vorcultur, gewisser Protozoën eignet sich Heu- oder Strohagar trotzdem vorzüglich, wie die Versuche Tsujitani's zeigen und mich fortgesetzte eigene Versuche überzeugten. Ich vermochte ohne sonderliche Mühe aus Wasser eine *Amoeba spinosa*, eine andere *Am. lobosa (oblonga?)*, einen kleinen Flagellaten, ja auch eine Ciliate zu isoliren und mit bestimmten Bakterien weiter zu züchten. Die erwähnte *Am. lobosa (oblonga?)* gedeiht mit Bakterien zusammen nur auf Heu- oder Strohagar, nicht aber auf Heu-Bouillonagar. Mit dem gewöhnlichen Laboratoriumsagar habe ich überhaupt keine Resultate erhalten, weder mit, noch ohne Bakterien.

Vorderhand lässt sich die Züchtung in keine Schablone bringen, die besten Bedingungen müssen speciell ausprobirt werden.

Aus den Arbeiten von Frosch und Tsujitani ergibt sich die Thatsache, die ich nur bestätigen kann, dass nicht jede Bakterienart als »Futterbakterie« gleichwerthig ist, die am besten zusagende muss eventuell aus der Vorcultur im Condenswasser des Heu- oder Strohagars herausgesucht werden.

Für die Cultur der Amöbe, deren Entwicklungskreis beschrieben werden soll, fanden vornehmlich zwei Arten von Bakterien Verwendung.

Eine Art *A*, die vorwiegend in den alten Amöbenculturen sich vorfand. Es sind lebhaft bewegliche, keine Sporen bildende Stäbchen, deren Colonien auf Gelatineplatten eine den Sonnenblumen ähnliche Zeichnung zeigen. Ihr Wachsthum auf den gebräuchlichen Nährböden bietet nichts Absonderliches, höchstens wäre der schleimige Charakter der Agarcultur hervorzuheben.

Weiters ein Milchsäurebacillus *B* — aus der Gruppe des *B. lact. aërogenes* — mit dem vergesellschaftet die Amöben

ganz vorzüglich gedeihen. Gewisse Culturen auch dieser Bakterie haben schleimigen Charakter. Vielleicht liegt in dem Umstande ein Fingerzeig, nach welcher Richtung hin die den Amöben zusagenden Nahrungsstoffe zu suchen wären. Die Vereinigung der Amöben mit den Futterbakterien gelang einfach in der Weise, dass das Condenswasser von mit der betreffenden Bakterienart vorgeimpften Agarnährböden mit den Amöben inficirt wurde. Nach einiger Zeit, 12, 24, 36 Stunden, zeigt sich bei Bruttemperatur ein deutliches Aufwärtskriechen der Amöben unter Vertilgung der inzwischen zu einem mehr oder minder dichten Rasen herangewachsenen Bakterien.

Diese Gesellschaft von Amöben und Futterbakterien kann leicht fortgezüchtet werden, entweder durch Eintragen von Impfmaterial in das Condenswasser frischer Eprouvetten und Überfluthen der schrägen Fläche, oder durch Ausstrich auf der letzteren. Von Zeit zu Zeit müssen frische Futterbakterien zugegeben werden.

Das »Wegfressen« der Bakterien ist namentlich deutlich ersichtlich bei der Futterbakterie *B*. Diese gedeiht auf der schrägen Fläche von Heu-Bouillonagareprouvetten in Form eines rahmartigen Belages, der durch die Amöben in eine mehr farblose, gummiartige Masse umgewandelt wird, wobei die Grenzlinie zwischen den an Amöben oder an Bakterien reichen Gebieten deutlich hervortritt.

Es handelt sich dabei um wirkliche Bakterienvernichtung, wie aus dem Umstande hervorgeht, dass bei wiederholter Übertragung von der schrägen Fläche einer Amöbencultur mit Futterbakterie *A* in frische Nährböden zum Schlusse überhaupt keine Vermehrung der Amöben mehr eintritt, oder sich höchstens 2—3 amöbenhältige Bakteriencolonien entwickeln. Erst wenn nach längerem Stehen die Bakterien im Condenswasser sich wieder vermehrt haben, oder bei Zugabe frischer Bakterien, erhält man bei neuerlich vorgenommener Überfluthung wieder schöne Amöbenculturen.

Ab und zu sieht man, namentlich in Culturen mit der Bakterie *B*, von der schrägen Agarfläche linsenförmige weissliche Bläschen in die Substanz des Agars ragen, die Amöben und Bakterien enthalten. Die Entstehung derselben ist wohl

nur in der Weise zu deuten, dass bei der manchmal unter Gasbildung erfolgenden Zersetzung des Nährbodens durch das Gas Nischen gebildet werden, die dann von den Bakterien und Amöben ausgefüllt werden.

Eine Züchtung der Amöben mit den Futterbakterien bei Ausschluss von Sauerstoff (nach Buchner) gelang nicht.

I. Theil.

Morphologie und Physiologie der cultivirten Amöbe.

Ihre Grösse beträgt im ruhenden Zustande 12—24 μ, kriechende Thiere haben eine Länge von 32—40 μ, bei einer Breite von 16—24 μ; selten erreichen sie eine Länge bis zu 100 μ, bei einer Breite von 20 μ und darüber (Riesenamöben).

Ihre Gestalt ist zumeist langgestreckt, jedoch auch plattenartig bis rund, im Grossen und Ganzen abhängig vom ungemein wechselnden Spiele der Pseudopodien, die meist in geringer Zahl, langsam, träge vorgestreckt werden und immer breit, stumpf sind.

Mit der Bildung der Pseudopodien ist nicht immer Ortsveränderung verbunden, manchmal werden fingerförmige Fortsätze an Ort und Stelle abwechselnd von allen Theilen der Körperoberfläche ausgestreckt, hie und da unter fast schnellender Bewegung. Ein Verschmelzen der Pseudopodien zweier benachbarter Individuen sah ich nie. Oftmals krochen 4—5 Thiere zusammen, umflossen sich gegenseitig durch längere Zeit, um sich dann wieder zu trennen. Ob dem Umstande eine Bedeutung zukommt, war nicht ersichtlich.

In der Regel werden in der Richtung der Bewegung langgestreckte hyaline Pseudopodien gebildet, in die dann das Entoplasma strömt, so dass das Thier fast eine bandartige Gestalt annimmt. Im Sinne der Bewegung ist dann der Kern meist im vorderen Theile, eine grössere oder 2—3 kleinere Vacuolen hinten gelagert.

Das Aussehen des Entoplasmas ist abhängig vom Alter und den Ernährungsbedingungen.

Bei jungen Amöben ist es fast structurlos, nur stärker lichtbrechend als das Ectoplasma, bei älteren gekörnt — bei Amöben mit der Bakterie *B* stärker als bei denen mit *A* —

oder auch »schaumig«, d. h. von zahlreichen Vacuolen durchsetzt. Dies tritt wieder viel auffallender in Erscheinung bei Amöben mit der Futterbakterie *B*.

Kern. Dieser ist meist in der Einzahl vorhanden, Amöben mit 2 Kernen sind nur in jungen Culturen häufiger zu sehen, vielkernig (bis zu 8) sind die später zu besprechenden Riesenamöben.

Der Kern ändert seine Gestalt mit der Gestaltsveränderung der Amöbe, er dehnt sich in die Länge, rundet sich ab etc., bald wird er vom strömenden Entoplasma fortgetragen, bald bleibt er fix und das Entoplasma strömt an ihm vorüber. Seine Grösse beträgt 4—8 μ.

Sein Aussehen ist verschieden bei jungen oder älteren, wohlgenährten Individuen. Bei ersteren präsentirt er sich als rundes bläschenförmiges Gebilde, der Kernkörper wird von einem ringförmigen, gleichmässig lichtbrechenden Hofe umgeben. Bei älteren ist deutlich eine mehr oder minder dicke Kernmembran zu erkennen, deren Aussenfläche von dicht aneinander gelagerten Körnchen umgeben ist.

Manchmal erscheint die Membran als eine fast starre Hülle. Diese Körnchenhülle bleibt, wenn einmal gebildet, constant, sie findet sich wieder in den Cysten und in den »Schwärmern«, die sich unter Umständen aus der Amöbe bilden. Die Erkennung des Kernes wird durch sie wesentlich erleichtert.

Der Raum zwischen Kernkörper und Membran (Kernsaft) erscheint homogen.

Im Kernkörper finden sich 1, manchmal auch 3—4 stärker lichtbrechende Plasmapartien (Nucleoluli?).

Vacuolen. Die Zahl und Grösse der Vacuolen ist variabel, je nach dem Alter der Amöben und ihren Ernährungsverhältnissen. Gewöhnlich sind 2—3 Nahrungsvacuolen vorhanden, ausserdem eine, die sich meist in regelmässigen Zwischenräumen plötzlich zusammenzieht. An Stelle dieser letzteren bilden sich 3—4 kleinere, die untereinander verschmelzen und wieder die Grösse der ursprünglichen erreichen.

Die Zusammenziehung und Neubildung erfolgt gewöhnlich innerhalb 3 Minuten, manchmal auch in längeren Zeiträumen. Bei Amöben, die in Folge des reichlichen Vorhandenseins von

Vacuolen ein wabenartiges Aussehen besitzen, lässt es sich kaum entscheiden, ob überhaupt Zusammenziehungen erfolgen, da die Vacuolen untereinander verschoben werden und einzelne nicht festzuhalten sind.

Die Grösse der Vacuolen wechselt sehr, sie beträgt 6 bis 12 μ, aber auch 20 μ bei den Riesenamöben. Ihre Lage ist wechselnd, häufig in der Nähe des Kernes oder bei vorwärts kriechenden Amöben im hinteren Körperende, in dem die pulsirende Vacuole in der Regel sich befindet.

Nahrungsaufnahme. Die Aufnahme der Futterbakterien in den Leib der Amöben war direct nicht zu sehen. In gefärbten Präparaten (Fixation mit Joddampf, Färbung mit Gentianaviolett, Waschen mit Alkohol) waren wohl Bakterien in der Umgebung der Amöben zu sehen, niemals aber Bakterien oder deren Reste in der Leibessubstanz. In ungefärbten Präparaten gelang es doch hie und da, wohlerhaltene Bakterien, in Vacuolen eingeschlossen, nachzuweisen. Besser gelang die Beobachtung der Aufnahme fremder Körper bei Zugabe von Algen *(Protococcus viridis)* oder einer Weinhefe. Gelangte eine Amöbe z. B. in die Nähe einer Algenzelle, so theilte sich das Pseudopodium, mittelst dessen die Amöbe vorwärts kroch, und umfloss die Alge, die rasch in die Nähe des Kernes kam und entweder dort verblieb oder nach kurzer Zeit an das hintere Ende geschoben und nach aussen befördert wurde. Die Grösse der aufgenommenen Algen oder Hefezellen betrug 6—8 μ.

Ein ausgezeichnetes Mittel ist ferner das Pigment des *Micrococcus prodigiosus*, um die Aufnahme fester Partikelchen in das Innere des Amöbenleibes zu demonstriren. Ein mit Amöben beschickter »hängender Tropfen« erhielt eine Zugabe einer ein paar Tage alten Kartoffelcultur des genannten Coccus; schon nach einigen Minuten treten rothe Körnchen im Inneren der Amöbe auf, die allmälig, zu grösseren runden Häufchen vereint, in Vacuolen eingelagert werden. Nach einiger Zeit erscheint das Entoplasma, besonders fleissig fressender Thiere, wie mit Pigment vollgepfropft. Diese angefressenen Thiere werden bald bewegungslos, runden sich ab und erscheinen als hübsche rothe Kügelchen in der theilweise noch farblosen Umgebung.

L. Matruchot[1] hat in einer Arbeit über Färbung von Fadenpilzen durch Pigmentbakterien *(Bac. violaceus)* den Gedanken ausgesprochen, dass diese Methode vielleicht auch für die Untersuchung der Protozoën erfolgreich wäre. Die von mir erhaltenen Resultate scheinen diese Annahme zu bestätigen, obzwar mich nur das Bestreben leitete, die Aufnahme fester Partikel in den Amöbenleib nachzuweisen.

An sonstigen Einschlüssen wären zu erwähnen stark lichtbrechende Körnchen, unregelmässig zerstreut oder in grösseren Häufchen vereint, die sich wie Glykogen mit Jod braun färben. Fetttröpfchen konnte ich mit Osmiumsäure nicht nachweisen; in Präparaten mit der Bakterie *B* Körnchen von krystallinischer Beschaffenheit bis zu deutlich ausgebildeten Krystallen des tetragonalen Systems (Calciumoxalat). Da in Präparaten dieser Bakterie ohne Amöben dieselben Gebilde reichlich anzutreffen sind, ist wohl eher an eine Aufnahme von aussen, als an eine Bildung im Inneren, etwa durch Stoffwechsel, zu denken.

Zeitweilig erfolgt am hinteren Ende, wenn die Amöbe in vorschreitender Bewegung ist, eine Ausstossung unverdauter Reste, sowie auch runder Gebilde, die aus einer Vacuole mit einer mehr oder minder dicken Plasmahülle bestehen. Die meisten dieser Gebilde platzen und schwinden aus dem Gesichtsfelde.

Der hintere Theil des Amöbenleibes zeigt bei älteren, grösseren Individuen fransenartige Anhängsel (Zöttchenbesatz nach Bütschli, houppe postérieure nach Delage und Hérouard), die zeitweilig abgestreift werden, so dass dieser Theil dann wieder vollkommen glatt erscheint. Zuweilen finden sich daselbst auch lange, dünne, fadenartige Anhängsel, das sind Reste von Plasmastreifen, die sich bei der Theilung der Amöben oft in beträchtlicher Länge bilden.

Fortpflanzung. Tod. Nach Angabe der Autoren kann die erstere durch Zweitheilung, Knospung oder Vermehrung in sogenannten Fortpflanzungscysten[2] erfolgen.

---

[1] L. Matruchot, Sur une méthode de coloration du protoplasma par les pigments bacteriens. Compt. rend. de l'Acad. des scien., T. CXXVII, p. 830.

[2] C. Scheel, Über die Fortpflanzung der Amöben. Sitzungsberichte der Gesellsch. für Morphologie und Physiologie in München, 1899, Heft. I.

Sicher beobachtet habe ich Zweitheilung nach vorausgegangener Kerntheilung.

Der Kernkörper (Nucleolus) streckt sich, seine Enden werden hantelförmig, dann dehnen sich beide kugeligen Hälften bis zur fadenförmigen Verdünnung des Verbindungsstückes, das endlich einreisst, worauf beide Kernkörper, umgeben von der Kernmembran, die sich in ähnlicher Weise getheilt hat, in verschiedene Pole der Amöbe begeben. Der ganze Vorgang dauerte circa 20 Minuten. Darauf erfolgte Theilung des Amöbenkörpers. Trotz lange und andauernd fortgesetzter Bemühungen habe ich solche Theilungen nur sehr selten gesehen, es war mir daher nicht möglich, durch Färbungsversuche den feineren Vorgang bei der Kerntheilung zu erschliessen.

Ausserdem muss aber noch eine andere Fortpflanzungsart existiren, über die ich allerdings derzeit keine sichere Mittheilung machen kann.

Untersucht man einen »hängenden Tropfen« von der schrägen Fläche einer zweitägigen Amöbencultur + Futterbakterie *A* oder *B*, so sieht man neben den Amöben von gewöhnlichem Aussehen so wenig und so selten in Zweitheilung begriffene oder mehrkernige Amöben, von denen man annehmen könnte, sie stünden vor der Theilung, dass es ganz unbegreiflich erscheint, dass auf diesem Wege allein die rasche Vermehrung erfolgen sollte. Häufig sieht man ganz kleine Entwicklungsformen, die an sprossende Hefezellen erinnern und deren Heranwachsen zu ausgebildeten Amöben leicht zu verfolgen ist; ihre Herkunft habe ich nicht gesehen (Taf. I, Fig. 4).

Interessant sind die bereits erwähnten vielkernigen Amöben, die am zweiten bis dritten Tage im Condenswasser der Culturen mit der Bakterie *B* anzutreffen sind.

Eine solche mit sieben gleich grossen Kernen konnte ich einmal durch längere Zeit beobachten. Die Amöbe bewegte sich fast gar nicht von der Stelle; an beiden Enden des langgestreckten Leibes wurden zeitweilig schmale hyaline Plasmasäume von lappigem Aussehen gebildet. Das Entoplasma war grobkörnig, schaumig. Die Kerne waren gehäuft, fast in der Mitte des Thieres gelagert. Bei bestimmter Einstellung waren gleichzeitig 3—4 deutlich zu sehen. In der Nähe der Kerne

befand sich eine grosse Vacuole. Eine contractile Vacuole sah ich nicht. Dieser Zustand der Amöbe erhielt sich unverändert durch fast 4 Stunden, da auf einmal trennten sich die Kerne von einander, sie wanderten in verschiedene Körperpartien, und nun theilte sich die Amöbe fast plötzlich in der Weise, wie dies die Fig. 5*b* wiedergibt. Die so entstandenen Amöben unterschieden sich in Nichts von den gewöhnlich beobachteten, 2 besassen je einen Kern, eine hatte 2, die vierte 3 Kerne. Diese dreikernige Amöbe theilte sich dann innerhalb 20 Minuten wieder weiter in eine ein- und eine zweikernige.

Tod. Unter ungünstigen äusseren Verhältnissen, Eintrocknung, platzen die Amöben, wobei der Körncheninhalt mit einem gewissen Drucke nach aussen geschleudert wird, der dann noch längere Zeit lebhafte Brown'sche Molecularbewegung zeigt.

Encystirung. Die Bildung dieser Dauerform ist von den Ernährungsverhältnissen, Feuchtigkeit etc. abhängig. Mit einer bestimmten Bakterie cultivirt, sah ich auch nach 20 Tagen noch keine Cysten, anderemale bilden sie sich schon nach 2—3 Tagen. Die Grösse der Cysten ist ziemlich constant und beträgt 14—16 μ. Sie sind rund bis oval. Liegen sie dicht beisammen, namentlich auf der schrägen Fläche der Culturen, woselbst auch Vertrocknungserscheinungen mit ins Spiel kommen mögen, so erscheinen sie auch vieleckig. Die Wand ist doppelt contourirt, manchmal mit Verdickungen (3—6) versehen, die an das Aussehen der Poren bei den Pollenkörnern erinnern. Die äussere Wand ist in der Regel glatt. Der anfangs farblose, später bräunliche Inhalt der Cyste ist gleichmässig granulirt, ein Kern ist immer, zwei seltener zu sehen. Einmal sah ich sogar eine vierkernige Cyste mit einem Durchmesser von 24 μ, ohne Zweifel herrührend von einer ungetheilt gebliebenen vielkernigen Amöbe.

Das Auskeimen richtet sich nach den Temperatur- und Feuchtigkeitsverhältnissen, sowie nach dem Alter der Cysten. Immer war das Thier, das aus der Cyste kroch, eine Amöbe, niemals ein Schwärmer.

Da die Amöbe aus einem diarrhöischen Stuhle gezüchtet ist, dürfte es von Interesse sein, sie ihrer Grösse nach mit den

Nr.	Bezeichnung der Amöbe	Autor	Grösse in µ			
			Amöbe	Kern	Cyste	
1	*Am. coli*	Loesch	im kugeligen Zustande 8—37	5—7	—	
2	*Am. intest. vulg.*	Quinke und Roos	40	—	—	Citirt nach Braun: Die thierischen Parasiten des Menschen, 1895.
3	*Am. coli mit.*	Quinke und Roos	im ruhenden Zustande 25—40	—	10—17	
4	*Am. coli*	Quinke und Roos	beim Kriechen 25—40	6—8	10—12	
5	*Am. coli*	Kruse und Pasquale	mittlerer Durchmesser 10—50	6	—	Citirt nach Kruse und Pasquale in Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten, Bd. XVI.
6	Gewöhnliche Darmamöbe	Kruse und Pasquale	12—35	—	—	
7	Strohamöbe	Kruse und Pasquale	10—15	—	»Sporen« Kartulis 5—7	

8	*Am. coli*	Celli und Fiocca	4—10	—	2—3·5	Celli und Fiocca: Intorno alla Biolog. d. Amebe. Roma, 1895.
9	*Am. coli*	Cunningham	8—25			
10	*Am. coli*	Grassi	abgerundete Individuen 8—22			
11	*Am. coli*	Kartulis	ruhende Individuen 12—30	5—7	—	Citirt nach Schuberg im Centralblatt für Bact. und Parasit., Bd. XIII, S. 654.
12	*Am. coli*	Massiutin	6—30			
13	*Am. coli*	Dock	13—37			
14	*Am. coli*	Schuberg	12—26			
15	*Am. Gruberi*	Schardinger	ruhende Individuen 12—24 Kriechende Individuen Länge 32—40 Breite 8—24	4—8	14—16	Die Maasse wurden bestimmt mit Zeiss Apochrom. 4 *mm*, Mess. Ocul. 29.

in der medicinischen Literatur angegebenen Darmamöben zu vergleichen.

Thierversuche. Einem Meerschweinchen wurde eine Aufschwemmung einer jungen Cultur (Amöben + Futterbakterien), einem zweiten eine Aufschwemmung der Futterbakterie allein intraperitoneal beigebracht, ohne dass durch diesen Eingriff Krankheitserscheinungen ausgelöst wurden.

Zwei Kaninchen erhielten eine Aufschwemmung einer älteren cystenhältigen Cultur in die Ohrvene (1 cm^3). Ein Thier verendete 3 Tage nach dem Eingriff an Coccidiosis, das zweite 14 Tage danach an katarrhalischer Pneumonie. Von den einverleibten Protozoën war nichts mehr nachzuweisen.

Nach den Grössenverhältnissen unterscheidet sich die fragliche Amöbe kaum von der *Amoeba coli* der Autoren, trennend wäre nur der Besitz einer pulsirenden Vacuole und die fehlende Pathogenität. Von diesen zwei ausschliessenden Momenten kommt nur die contractile Vacuole in Betracht, da die Pathogenität der *Am. coli* noch nicht sicher erwiesen ist. Der Besitz einer contractilen Vacuole gilt allerdings als sicheres und constantes Unterscheidungsmaterial der Arten, es ist aber wohl denkbar, dass unter gewissen Umständen Schwankungen in der Häufigkeit der Contraction auftreten können, und die Entscheidung schwer fällt, ob eine gewöhnliche Vacuole oder eine contractile Blase vorliegt.

Vorderhand, da bisher bei der *Am. coli* ein Übergang in einen Flagellatenzustand nicht beobachtet wurde, halte ich mich für berechtigt die geschilderte Amöbe für eine neue Art zu halten und nenne dieselbe zu Ehren meines hochgeehrten Vorstandes, Herrn Prof. Dr. Max Gruber, *Amoeba Gruberi.*

II. Theil.

Entwicklung eines flagellatenartigen Schwärmers aus der Amöbe.

Schon zu Beginn meiner Culturversuche verursachten mir zeitweilig im Condenswasser der Culturen auftretende Flagellaten vielen Kummer, da ich sie für eine Verunreinigung hielt und mein Bestreben, irgend ein Entwicklungsstadium des

Flagellaten finden zu können, das mir die Ausscheidung dieser »Verunreinigung« ermöglichte, vergebens war; schliesslich hatte ich immer nur einerlei Cysten.

Diese Flagellaten traten in den im Brutschrank gehaltenen Culturen, wenn überhaupt, meist am dritten bis vierten Tage auf. Die Temperatur des damals verwendeten Brutschrankes schwankte zwischen 30—36° C.

Kurz, die Sache war unklar, bis ein in die richtige Bahn geleiteter »Zufall« Aufklärung brachte.

Ein mit Amöben inficirter »hängender Tropfen« wurde auf den Brutofen (Temperatur circa 25—30°) gelegt und nach Ablauf zweier Stunden wieder beobachtet. An Stelle der Amöben waren fast zur Gänze lebhaft schwärmende Flagellaten getreten. Bevor wir die zu dieser Umgestaltung nöthigen Bedingungen näher beleuchten, soll die Entwicklung geschildert werden, wie sie in ununterbrochener Reihenfolge vor sich geht.

Inficirt man einen Tropfen Wasser (unter Einhaltung aseptischer Bedingungen) mit einer 2—3 Tage alten Cultur der Amöbe mit Futterbakterie *A* z. B., legt das Deckglas auf den mit einem Vaselinring versehenen Hohlschliff eines Objectträgers, dichtet durch leichten Druck ab und legt das Präparat auf den Tisch eines in einem heizbaren Raume befindlichen Mikroskopes, so sieht man bei einer Temperatur von 30—34° nach beiläufig 70 Minuten, dass die Amöbenleiber stärker lichtbrechend werden, nur mehr kurze Pseudopodien ausgestreckt werden, und die Amöben sich allmälig abrunden.

Nach weiteren 5—10 Minuten bemerkt man im Innern der nun runden Amöbe eine gewisse Unruhe, der Kern ändert seine Lage und Gestalt, ebenso die 2—3 Vacuolen, die nicht immer vorhanden sind. Nun befällt ein leises Zittern das Thier, es fängt an zu schwanken und sich langsam, langsam im Kreise zu drehen. Sind gerade Bakterien in dichterer Masse in der Umgebung, so werden diese an einer Stelle des Thieres lebhaft hin und her gewirbelt. Die Ursache dieses Wirbels sind Geisseln, deren Hervortreten man daselbst bei günstiger Lage und Beleuchtung deutlich verfolgen kann. Meist erscheinen zwei Geisseln, die sich allgemach verlängern und die Kreisbewegung des Thieres rascher gestalten. Plötzlich ändert das

Thier seine Gestalt, es wird ovoid, geräth aus der bisher eingehaltenen Bahn und verschwindet rasch aus dem Gesichtsfelde.

Nach 1 Stunde 15—20 Minuten sind über 90% der Amöben zu Flagellaten geworden. Das sich nun bietende Bild ist höchst interessant: aus den bedächtig sich bewegenden Amöben ist eine Schaar hastig sich tummelnder Schwärmer geworden.

Es ist wohl kaum nöthig, zu bemerken, dass die Zeitangaben nicht absolute sind, dass gewisse Schwankungen eintreten.

Um über die einzelnen Stadien des Umbildungsvorganges, die Lage der Geisseln etc. näheren Aufschluss zu erhalten, wurde eine Reihe »hängender Tropfen« in einen Raum von circa 30—32° gebracht, einzelne in bestimmten Zeitintervallen herausgenommen und fixirt. Zur Fixation verwendeten wir das von Zoologen und Botanikern mit bestem Erfolge seit langem benützte Jod, entweder in Dampfform oder in Lösung mit Jodkalium. Auf den Boden einer Glasdose wird ein Stückchen Jod gelegt, darüber ein Glasring, auf den dann das Deckglas zu liegen kommt; die Concentration der Jod-Jodkaliumlösung muss ausprobirt werden, da in zu concentrirten Lösungen leicht künstliche Formveränderungen auftreten.

Wir erhielten so eine Reihe vortrefflicher Bilder, die sich auch längere Zeit erhalten lassen.

Die Haupttypen der geschilderten Umwandlung sind auf der beigegebenen Tafel II ersichtlich.

Temperatur und Ernährung spielen bei dieser Umwandlung eine grosse Rolle.

Je freier die verwendete Cultur von Bakterien ist, umso rascher erfolgt bei 30—34° — der Umwandlungstemperatur — die Flagellatenbildung.

Je niedriger die Temperatur ist, umso mehr verlangsamt sich die Umbildung, sie tritt aber immer bei Temperaturen zwischen 15—34° ein. Über 34° tritt nur vereinzelte oder auch gar keine Bildung von Flagellaten auf, ja man kann bereits fertig gebildete Flagellaten durch Einbringen in einen Raum von 36—37° wieder zu Amöben rückgestalten.

Ähnlich liegen die Verhältnisse bei der Ernährung, respective dem Bakteriengehalte — ob Futterbakterie *A* oder *B*, bedingt keinen wesentlichen Unterschied —, je reicher an Bakterien die Cultur, umso langsamer erfolgt im hängenden Tropfen die Umbildung in den Flagellatenzustand und umgekehrt. Verwendeten wir z. B. im hängenden Tropfen an Stelle des Aqua destillata ein Tröpfchen Condenswasser aus einer Heu-Bouillon-Agareprouvette, so genügte schon die in der Zeit eintretende Vermehrung der Bakterien — der ursprünglich daran armen Cultur —, um eine Verzögerung der Umbildung eintreten zu lassen. Die im Condenswasser gelösten anderweitigen Nährstoffe dürften ebenfalls von Einfluss sein.

Man kann selbstverständlich diese Umbildung auch im »Grossen« vornehmen, z. B. auf einem Uhrschälchen mit sterilem Wasser in feuchter Kammer oder in Eprouvetten. In letzteren waren noch nach 7 Tagen Schwärmer anzutreffen.

Der Gedanke liegt sehr nahe, dass diese Umbildung nur eine Anpassung an geänderte, respective erschwerte Lebensbedingungen ist.

Will man unter den so mannigfach gestalteten Individuen einen Gestaltstypus herausgreifen, so wäre die vorherrschende und am ehesten noch beständige Gestalt des Flagellaten eine birn- oder flaschenförmige, wobei der abgerundete bauchige Theil das Hinterende, der dünnere gestreckte Theil das Vorderende bildet.

Im Vorderende, dem Sitze der Geisseln, nimmt der Kern eine recht beständige Lage ein, er liegt entweder knapp der äusseren Umgrenzung an oder verschiebt sich etwas gegen das Hinterende, in dem gewöhnlich eine pulsirende Vacuole gelagert ist.

Die äussere Umgrenzung ist glattt, die Form des Flagellaten durch längere Zeit beständig, nur am Vorderende treten zeitweilig Änderungen auf.

Die Grösse der Flagellaten beträgt 20—24 μ Länge, bei einer Breite von 10—12 μ. Der Kern unterscheidet sich in Nichts vom Kerne der Mutteramöbe, er schmiegt sich den Gestaltsveränderungen, soweit sie das Vorderende betreffen, an, seine Membran trägt fast immer die Körnchenhülle.

Sehr hübsch ist das Bild, wenn das Thier mit seiner Längsaxe in der optischen Axe liegt; der Kern zeigt sich dann als kegelförmiges Bläschen, die Spitze nach oben, die Basis nach unten gerichtet. Eine Theilung des Kernes haben wir im Flagellatenzustande niemals beobachtet.

Vacuolen. Gewöhnlich ist eine pulsirende, manchmal sind ausserdem auch 2—3 Nahrungsvacuolen vorhanden. Die Lage der ersteren ist meist im Hinterende. Die pulsirende Vacuole sieht man häufig an die Oberfläche kommen, diese wird bruchsackartig vorgestülpt, und unter Contraction der Vacuole sinkt die vorgebauchte Stelle wieder ein. Von der Seite gesehen, scheint die äussere Umgrenzung des Flagellaten an dieser Stelle eine scharf umschriebene, runde Zusammenhangstrennung aufzuweisen. Nie waren in der Vacuole Inhaltskörper, wie Bakterien oder Detritus derselben, ersichtlich.

Geisseln. Diese Bewegungsorgane sitzen gewöhnlich am Vorderende. Sie sind so lang wie der Körper des Flagellaten, meist nach vorne gerichtet, obwohl es auch vorkommt, dass eine nach rückwärts gerichtet ist. Manchmal sitzen sie seitlich, fast immer jedoch in der Nähe des Kernes, zu dem sie convergiren. Ein objectiver Nachweis des Zusammenhanges der Geisseln mit dem Kern ist nicht gelungen.

Gar nicht selten sind Flagellaten mit vier Geisseln, je zwei paarweise vereint, manchmal vereint an derselben Stelle, manchmal an verschiedenen Stellen sitzend. Zeitweilig ragt die Ursprungsstelle der Geisseln als kleines Knöpfchen hervor.

Nahrungsaufnahme. Diese haben wir direct nicht beobachtet, dass aber eine solche stattfindet, geht aus nachfolgendem Versuche hervor. Zu einem flagellatenhältigen hängenden Tropfen brachten wir eine Spur einer Pigment enthaltenden Prodigiosuscultur; binnen kurzer Zeit waren im Hinterende, bei den in der Nähe der Zugabestelle befindlichen Flagellaten, rothe Pigmentkörnchen zu sehen. Der Weg, den sie zum Eindringen genommen, blieb uns unsichtbar. Übrigens wandelten sich in Folge dieser Zufuhr an Nahrungsstoffen die meisten Flagellaten wieder zu Amöben um.

Eine Fortpflanzung im Flagellatenstadium haben wir nicht beobachtet. Vielleicht liegt eine Andeutung der Möglichkeit

einer solchen in der Beobachtung, dass, übrigens sehr selten, ein Individuum sich der Länge nach in zwei vollständig gleiche Hälften theilte, die nur durch einen dünnen Strang noch zusammengehalten wurden, schliesslich verschmolzen doch wieder beide zu einem; der in einer Hälfte liegende Kern hatte keine Veränderung durchgemacht.

Auch der bereits erwähnte Besitz von zwei Geisselpaaren dürfte darauf hindeuten, dass unter Umständen eine Fortpflanzung durch Theilung möglich wäre.

Die Bewegung, meist in der Richtung der Längsaxe vorschreitend, ist sehr mannigfaltig. Es liesse sich schwer ein erschöpfendes Bild der verschiedenen Arten geben.

Vornehmlich sind drei Arten zu beobachten:

1. Eine vorschreitende unter Drehung des Körpers um seine Längsaxe.

2. Der Flagellat dreht sich wie der Arm im Schultergelenk, wobei der Handrücken immer nach oben sieht (Delage und Hérouard).

3. Der kahnförmige Flagellat bewegt sich nach vorwärts in der Richtung der Längsaxe, während der nach unten gerichtete bauchige Theil zur Längsaxe senkrechte, pendelnde Bewegungen vollzieht.

Abweichungen von der früher geschilderten Körperform kommen sehr häufig vor, namentlich das Vorderende ist der Sitz von eintretenden Formänderungen.

Manchmal glaubt man eine wirkliche Mundöffnung vor sich zu haben, dann wieder wölbt sich die eine Hälfte des Vorderendes über die andere, überragt die letztere in Gestalt eines Schnabels; aus dem Grunde der so gebildeten Bucht entspringen die seitlich gerichteten Geisseln; oder die eine Hälfte streckt sich als langer Rüssel nach vorne, das ganze Vorderende verjüngt sich zu einem langen, dünnen, spiralig gedrehten Hals, wobei das Hinterende kolbig anschwillt; oder beide vorderen Hälften dehnen sich nach entgegengesetzter Richtung, fassen zwischen sich eine breite Bucht, so dass das Thier wie ein Kleeblatt aussieht. Diese Dehnung kann so weit gehen, dass, wie bereits erwähnt, scheinbar zwei Individuen entstehen.

Bei all diesen Formänderungen ist die äussere Umgrenzung stets glatt.

Hervorzuheben ist ferner die Bildung von Schleppgeisseln, die am Ende glatt sind oder einen kugelförmigen Körper tragen; sie haften meist am Hinterende, aber auch an anderen Körperstellen und werden zeitweilig hin und her geschleudert.

In einem hängenden Tropfen, der reich an Futterbakterie *A* war, hatte sich um den rückwärtigen kolbigen Theil des Flagellaten eine förmliche Hülle (aus bakteriellem Detritus?) gebildet, die zeitweilig abgestreift wurde, andere waren wieder am Hintertheil wie mit Stacheln besetzt, kleinen, circa 1 μ langen Borsten, die am Ende ein kleines Körnchen trugen.

III. Theil.

Rückbildung des Flagellaten zur Amoeba lobosa.

Die Flagellaten werden unter gewissen Umständen zur geisseltragenden Amöbe, die sich wieder zum Flagellaten umbilden kann, oder unter Rückbildung der Geisseln zur *Amoeba lobosa* wird.

Als solche rückgestaltende Einflüsse wurden hauptsächlich folgende beobachtet:

1. Einwirkung höherer Temperatur, über 34°;
2. intensive Belichtung;
3. Behinderung in der freien Beweglichkeit;
4. Zufuhr frischer Nahrungsstoffe.

Der Körper der Flagellaten verliert seine glatten Contouren, an verschiedenen Stellen treten kurze, dicke, granulirte (nicht hyaline) Ausstülpungen hervor, das Gebilde torkelt als durchsichtiges, mit 2, 3 oder mehr Zipfeln versehenes Klümpchen in der Flüssigkeit herum, bis es ihm glückt, an einer Stelle haften zu bleiben. Bald darauf treten an einer oder der anderen Stelle hyaline Protoplasmafortsätze auf, kurz das Thier wird wieder zu einer Amöbe, an der bei günstiger Beleuchtung noch das Spiel der Geisseln deutlich wahrzunehmen ist. (Mit Jod-Jodkalium oder Joddampf lässt sich das Bild vortrefflich fixiren.) Während das Thier als Amöbe weiterkriecht, sind die Geisseln fortwährend bald lässig, bald behende thätig.

Der Einfluss der Temperatur und Belichtung kann leicht unter dem Mikroskope verfolgt werden.

Wurde z. B. von zwei Präparaten mit Schwärmern — aus derselben Amöbencultur — eines in den Brutofen (36°), das andere bei Zimmertemperatur belassen, so war im ersteren schon nach zwei Stunden eine deutliche Abnahme, nach vier Stunden war überhaupt kein Flagellat mehr zu sehen; das bei Zimmertemperatur gehaltene Präparat blieb unverändert.

Wurde nun das bei 36° rückgewandelte Präparat wieder bei Zimmertemperatur gehalten, so erschienen wieder die Flagellaten.

Durchmustert man ein Flagellatenpräparat, nachdem es $1-1\frac{1}{2}$ Stunde bei 36° gehalten worden, so fällt auf, dass das Hinterende der meisten noch erhaltenen Flagellaten schwanzartig ausgezogen ist, was gelegentlich schon O. Bütschli[1] bei *Ciliophrys infusionum* beobachtet hat, »wenn der Organismus in seinen rhizopodenartigen Zustand übergeht«.

Der Einfluss behinderter Beweglichkeit lässt sich leicht in der Weise demonstriren, dass ein Deckglas mit einem flagellatenhältigen Wassertropfen ausserhalb desselben mit Vaselin ringförmig bestrichen und auf einen ebenen Objectträger übertragen wird. In solchen Präparaten werden sehr bald die Flagellaten zu geisselführenden Amöben, die unter günstigen Umständen für kurze Zeit wieder zu Flagellaten werden können oder sich dauernd unter Rückziehung der Geisseln zu Amöben umbilden.

Diese Rückziehung der Geisseln scheint ihr Endschicksal zu sein, wir haben wenigstens weder im gefärbten, noch ungefärbten Präparate jemals ein Gebilde angetroffen, das einer abgestossenen Geissel ähnlich gesehen hätte.

Endlich hat auch die Zugabe frischen Nährmaterials rückbildenden Einfluss, wie bereits bei der Schilderung der Nahrungsaufnahme der Flagellaten (Prodigiosus-Cultur) erwähnt wurde.

Fassen wir zum Schlusse die Lebenszustände unserer Amöbe noch einmal kurz zusammen, so haben wir eine nackte

---

[1] Zeitschrift für wiss. Zool., Bd. XXX, S. 204.

Amöbe, die sich mit stumpfen, lappigen Pseudopodien bewegt. Eine Verschmelzung der Pseudopodien verschiedener Individuen, eine Plasmodienbildung, wie dies bei anderen Rhizopoden beobachtet wird, haben wir nicht gesehen. (Ob die früher erwähnten Riesenamöben nicht doch auf dem Wege der Verschmelzung von Einzelindividuen entstehen, diese Frage müssen wir offen lassen, möglich wäre es wohl.)

Das Thier vollendet seine Laufbahn als Amöbe schlechtweg oder geht unter gewissen Bedingungen in einen flagellatenartigen Zustand über. Der Amöbenzustand encystirt sich unter bestimmten Verhältnissen, in der Cyste findet keine Theilung statt, und es kriecht aus ihr immer, soweit ich gesehen, wieder nur eine Amöbe aus.

Würde man dem flagellatenartigen Organismus für sich allein begegnen, losgelöst von der bekannten Entwicklung, könnte man an ihm Anklänge an verschiedene als Flagellaten beschriebene Organismen finden, so an Rhizomastiginen: Mastigamöben, Dimastigamöben, *Rhinchomonas, Pleuromonas, Cercomonas*, selbst an *Bodo*-Arten.

G. Klebs betrachtet in seinen Flagellatenstudien[1] als das Charakteristikon der Rhizomastiginen den Umstand, dass sie unter normalen Verhältnissen, auch während des Amöbenzustandes ihre Geisseln nie verlieren, was bei der geschilderten Amöbe nicht zutrifft.

Trotzdem glaube ich, die gemachte Beobachtung richtig dahin zu deuten, dass die geschilderte Amöbe unter bestimmten Umständen zu einem Flagellaten wird.

Wenn auch eine Fortpflanzung im Flagellatenzustande nicht beobachtet wurde, so ist zu bedenken, dass in einer Cultur doch nicht in allen Daseinsphasen das Leben eines Organismus sich so abspiegeln dürfte, wie es im »Freien« sein könnte.

Ähnliche Beobachtungen wurden mehr oder minder vollständig bereits bei einigen nächstverwandten Rhizopodenarten gemacht, so z. B., soweit ich die zoologische Literatur in dieser Richtung übersehen kann, von Hertwig[2] bei *Microgromia*

[1] Zeitschrift für wiss. Zool., Bd. XXX, S. 204.

[2] Arch. f. mikrosk. Anat., Bd. X, Suppl.

socialis, einer Monothalamie, von Cienkowsky[1] bei *Ciliophrys infusionum*, und endlich hat Schauddin[2] einen ähnlichen Vorgang lückenlos verfolgt bei *Paramoeba Eilhardi*, einem amöbenähnlichen marinen Organismus.

Literatur.

Ausser der im Texte angegebenen Literatur wurde noch benützt:

Bronn, Classen und Ordnungen des Thierreiches, 1889.
Delage und Hérouard, Traité de Zoolog. concret. Paris, 1895.
Hertwig und Lesser, Über Rhizopoden und denselben nahestehende Organismen. Arch. für mikr. Anat., Bd. X, Suppl.

[1] Arch. f. mikrosk. Anat., Bd. XII, S. 29.
[2] Sitzungsber. der k. preuss. Acad. der Wissenschaften, 1896, S. 31.

Erklärung der Abbildungen.

Fig. 1. Nach Schauddin fixirte Amöben, gefärbt mit Lithion-Carmin. Vergr. 750.

Fig. 2. Amöben aus einer circa 4 Tage alten Cultur mit Futterbakterie *B*. Lebend gezeichnet. Vergr. 500.

Fig. 3. Kern mit Körnchenhülle. Amöbe aus einer 8 Tage alten Cultur. Fixirt mit Jod. Vergr. 1000.

Fig. 4. Junge Bildungsformen der Amöben. Vergr. 375.

Fig. 5. *a* »Riesenamöbe« aus dem Condenswasser einer 3 Tage alten Cultur mit Futterbakterie *B*. Lebend gezeichnet. Vergr. 375. *b* Theilung der »Riesenamöbe«; nach einer Skizze.

Fig. 6. Cysten, eine mit 2 Kernen. Vergr. 750.

Fig. 7. *a, b, c, d, e* »Schwärmer«; die Entwicklung aus der Amöbe entsprechend der Buchstabenfolge; *f, g, h. i, k* vielgeisselige und verschieden gestaltete Schwärmer. Fixirt mit Jod. Vergr. 750.

Fig. 8. *a, b* Mastigamöben. Lebend gezeichnet. Vergr. 750.

Anmerkung. Zur Beobachtung und Zeichnung wurde ein Instrument von Zeiss mit Apochromaten benützt.